

# PATENT COOPERATION TREATY

EO/US  
PCT/JP99/05758

**PCT**

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner  
US Department of Commerce  
United States Patent and Trademark  
Office, PCT  
2011 South Clark Place Room  
CP2/5C24  
Arlington, VA 22202  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE  
in its capacity as elected Office

Date of mailing: <p style="text-align: center;">26 April 2001 (26.04.01)</p>	
International application No.: <p style="text-align: center;">PCT/JP99/05758</p>	Applicant's or agent's file reference: <p style="text-align: center;">99-F-042PCT</p>
International filing date: <p style="text-align: center;">19 October 1999 (19.10.99)</p>	Priority date: 
Applicant: <p style="text-align: center;">MAEKAWA, Takaaki</p>	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:  

21 April 2000 (21.04.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:  

\_\_\_\_\_

2. The election ☒ was

☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland  Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer:  <p style="text-align: center;">J. Zahra</p> Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---



(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2001 年 4 月 26 日 (26.04.2001)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 01/29203 A1

- (51) 国際特許分類<sup>7</sup>: C12N 11/08, (MAEKAWA, Takaaki) [JP/JP]; 〒305-0006 茨城県つくば市天王台 1-1-1 Ibaraki (JP).  
11/10, 11/14, C12M 1/40, C02F 3/10
- (21) 国際出願番号: PCT/JP99/05758 (74) 代理人: 弁理士 西澤利夫(NISHIZAWA, Toshio); 〒150-0042 東京都渋谷区宇田川町37-10 麻仁ビル6階 Tokyo (JP).
- (22) 国際出願日: 1999 年 10 月 19 日 (19.10.1999)
- (25) 国際出願の言語: 日本語 (81) 指定国 (国内): CN, US.
- (26) 国際公開の言語: 日本語 (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 科学技術振興事業団 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION) [JP/JP]; 〒332-0012 埼玉県川口市本町4丁目1番8号 Saitama (JP). 添付公開書類:  
— 国際調査報告書
- (72) 発明者; および 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 前川孝昭

(54) Title: TRACE ELEMENT-CONTAINING CARRIER FOR GROWING MICROORGANISM

(54) 発明の名称: 微量元素を抱括した菌体増殖用担体

(57) Abstract: A carrier for culturing a microorganism wherein a polymer (11) containing trace elements and inorganic nutritious salts which are needed in the growth of the microorganism is sandwiched and laminated between inorganic porous materials (12). This carrier is useful in bioreactors having a high activity and a high microbial cell density, processing waste water, etc.

(57) 要約:

菌の増殖のための微量元素や無機栄養塩を抱括した高分子体 (11) が無機質多孔体 (12) により挟持積層されている菌体培養担体とし、高い活性と高密度菌体によるバイオリアクタや廃水処理等に有用な培養担体を提供する。

WO 01/29203 A1



.

.

.

.

## 明 細 書

## 微量要素を抱括した菌体増殖用担体

## 技術分野

この出願の発明は、微量要素・無機栄養塩類拡散型菌体培養用担体に関するものである。さらに、この発明は、廃水処理装置、食品製造工業、医薬品製造工業等に有用な微量要素・無機栄養塩類拡散型菌体培養用担体に関するものである。

## 背景技術

従来より、担体を製造する方法としては、菌や酵素を高分子ポリマーゲル内に抱括させる方法（抱括法）が知られており、工業的に利用されている。

しかしながら、従来の方法においては、菌の増殖に有用な微量金属要素や無機栄養塩類が外部培養液から担体内部に拡散移動することに依存しているために、これらの物質の拡散速度は菌の増殖に律速される。また、代謝された物質は担体表面への拡散抵抗があるために菌の増殖に阻害となる場合がある。さらに、ガス状の物質が代謝される場合には担体の浮上や破壊が生じる。さらにまた、抱括法等の従来の方法では使用する高分子の毒性によって菌の活性が著しく減退するため、菌の密度が高まってもその活性は菌の密度に必ずしも比例しない等の問題が生じていた。

そこで、これらの問題を解決するために、菌と担体とを

物理化学的に付着させる表面結合型担体が開発された。

しかしながら、この方法においては、菌が増殖する際に分泌する粘着性の高分子状物質と担体の物理化学的な付着に依存するため、菌の増殖は外部液から浸入する液の無機栄養塩や微量元素成分の構成によって律速される。さらに担体表面に存在する菌がバイオリアクタ内で流動する際に菌のはく離が生じ、高密度集積培養におのずから制限が発生する等の問題が生じていた。

そこで、この出願の発明は、高い活性と高密度菌体をバイオリアクタや廃水処理装置内に実現できる新しい微量元素・無機栄養塩類拡散型の菌体培養用担体を提供することを目的としている。

#### 発明の課題

この出願の発明は、上記の課題を解決するものとして、菌体増殖のための微量元素を合成または天然の高分子に抱括した要素高分子体が合成または天然の無機質多孔体により挟持積層されていることを特徴とする微量元素を抱括した菌体増殖用担体（請求項１）を提供する。

また、この出願の発明は、粒状体、筒状体または板状体である前記菌体増殖用担体（請求項２）や、ハニカム構造体である前記菌体増殖用担体（請求項３）をも提供する。

#### 図面の簡単な説明

図１はこの発明の円柱状の担体を例示した斜視図である。

図２は 多重円筒状の担体を例示した斜視図である。

図 3 は平板状の担体を例示した斜視図である。

図 4 はハニカム状構造の担体の一部を例示した斜視図である。

図 5 この発明の担体をバイオリアクタに装入した例を示した断面図である。

図 6 (A) (B) は、各々、角柱状または円柱状の多孔体を複数個所くりぬいて高分子体を充填した担体の例を示した斜視図である。

図 7 (A) (B) は、各々、バイオリアクタへの担体の配置例を示した側断面図および平面図である。

図 8 バイオリアクタ内の流れと平行に担体を配置した例を示した断面図である。図 9 図 3、図 4 または図 6 (A) の担体を配置した例を示した断面図である。

なお、図中の符号は、次のものを示している。

- 1 担体
  - 1 1 高分子体
  - 1 2 無機質多孔体
  - 1 3 中空部
- 2 リアクタ

#### 発明を実施するための最良の形態

この出願の発明は、前記のと通りの結合型担体として、菌の増殖に必要な微量金属要素や無機栄養塩などの有用物質を結合型担体内の合成または天然の高分子に高い濃度で抱括させる。そして、その周辺に、微生物が棲息しやすい多孔質物質（合成または天然の無機質多孔体）を配設し、

微生物の棲息密度を高める。

このような担体は、リアクタ内に配置し、担体の周辺を処理すべき液体が担体に平行あるいは直交する等の流れの中で微生物群に接触し、基質の分解がなされる。

これによって、使用する高分子の毒性による菌の活性低下を防止し、また、担体を構成する高分子体や無機質多孔体の厚さや空隙を調整することによって増殖阻害を防止する。さらに、菌の種とその特性ならびに利用するリアクタの流動性に対応させて、菌の物理的はく離を防止するものである。

また、この発明は、メタン菌の高濃度培養を図る研究上の知見、すなわち菌の増殖に必要な微量元素・無機栄養塩の欠乏が菌の増殖を律速するとの観点から、菌の密度は高密度化できることを発見したことに基づいてもいる。

さらにリービッヒの最小則、すなわち、どのような菌も菌が必要としている物質が1つでも欠乏すると菌の増殖は停止することにもこの知見は符合する。この知見より、バイオリアクタや廃水処理装置内で活動している各種の菌の増殖に必要な物質の供給方法として、担体内部にこれらの物質を高濃度に包括させ、拡散によって担体内部より表面に拡散移動させて、表面に生息する菌にこれらの物質を供給する。これを菌が取り込むことによって増殖をつづけ、菌の高密度状態が維持可能になることを実験的に確認してもいる。

微量元素や無機栄養塩類を抱括したこの発明の高分子については、合成高分子では、たとえば吸水性ポリマー等と



して知られているアクリル系、メタアクリル系、ビニルアルコール系、ビニルエステル系、ポリエーテル系、ポリエステル系、ポリオレフィン系等の各種のポリマーまたは共重合ポリマー、それらのゲル等が代表例として示される。これらの高分子に微量要素や無機栄養塩類が抱括されて固定化されている。この高分子は微粒子ポリマーの集合体としても構成できる。

また、さらには、高分子としては天然のものでもよく、寒天ゲル、セルロース系、多糖類の各種のもの等であってよい。

この発明の無機質多孔体としては、合成または天然の各種のものでよく、セラミックスや、多孔質コンクリート、岩綿、軽石等の火山性の多孔質体などが使用される。この多孔体は空隙率が95%よりわずかに少ないか、98%をわずかに上回る近似範囲も含めて95～98%程度、より好ましくは95～98%で、空隙の直径が2～0.1mmのものが最も菌の増殖に適している。また、用いる菌の増殖に有害な物質（Cdなどの重金属）を溶出しないものを選ぶ必要がある。さらに、天然物にあっては通性嫌気性菌によって容易に分解されないものを選定することが重要である。

前記の微量要素さらには無機栄養塩を抱括した要素高分子体は、この発明の担体においては、前記の無機質多孔体に挟持された状態で積層される。担体としての全体形状は、円筒、角筒等の筒状体、平板、曲面板等の板状体、その他の各種の異形体であってよい。

なお、この発明における微量元素や無機栄養塩は、通常考慮されている微量金属要素、そして無機栄養塩のうちから選定されるもの等であってよく、たとえば微量元素としては、Mg、Mn、Fe、Ni、Co、Cu、Se、Mo、Al、W、Ca、B等が例示され、また無機栄養塩としては、アルカリ金属のリン酸塩や炭酸塩等である。

菌体そのものについては、前記多孔質体に対して、たとえばその表面や、内部の細孔内、隙間内等において、たとえば共有結合、物理的吸着、あるいはイオン結合によって結合固定化されることになる。なお、菌体は、あらかじめ担体に抱括されていてもよいし、担体の特徴によって、担体表面に集積されるようにしてもよいし、その両者の共存であってよい。

添付した図面は、この発明の担体を例示したものであって、図1の場合には、円柱型の担体(1)を例示しており、中心芯部の高分子体(11)は、菌体増殖のための微量元素、さらには無機栄養塩を抱括した高分子体であり、この芯部は、周囲の無機質多孔体(12)により挟持積層された構造を有している。

図2は、多重円筒型の担体(1)を例示している。この場合には、中空部(13)を持つ円筒体において、菌体増殖のための栄養塩等の微量元素を抱括した高分子体(11)を無機質多孔体(12)により挟持して積層した構造を有している。

図3は、平板型の担体(1)を例示している。この場合には、平板状の前記同様の高分子体(11)を無機質多孔

体（１２）が挟持して積層した構造となっている。

図４の場合には、ハニカム構造の担体（１）を例示している。中空部（１３）を囲んだ壁面において、前記同様の高分子体（１１）が無機質多孔体（１２）により挟持積層されている。

たとえば以上のような担体は、バイオリアクタ内に設置されることになる。このバイオリアクタへの使用に際しては、リアクタ内の液流の流れとの関連で、培養が最も効率的に行われるように、培養の目的、対象の菌種とその性質、基質、微量要素や無機栄養塩の拡散速度等を考慮して担体とその配置を定めることができる。

たとえば図５は、図１～３のような担体（１）をリアクタ（２）内に装入した例であり、図６（Ａ）（Ｂ）は、角柱状または円柱状の無機質多孔体（１２）を、複数個所において略平行にくりぬいて円柱状または粒子状の前記同様の微量要素・無機栄養塩を抱括した高分子体（１１）を充填した例を示したものである。図７の場合には、その側断面図（Ａ）および平面図（Ｂ）に示したように、たとえば図３の平板状の担体（１）をリアクタ（２）内に、流れを制御するように、上下および左右に千鳥状に配置されている。図８は、図１～３の担体（１）を、培養液の流れ方向に対して、前記無機質多孔体（２）の側面部が略平行になるように配置した例を示している。図９は、図３、図４および図６（Ａ）の担体（１）をバイオリアクタに積んで構成を例示しており、同様に、側面部が流れに略平行になるようにしている。この図９の態様においては、前記高分子

体の充填率を実有効容積の 15 ~ 25 % (体積率) とすることで優れた機能が発揮されていることが確認されている。

この発明の担体の使用によって、たとえば菌体濃度は 10 ~ 25 g - d r y · c e l l / l が期待できる。従来の方法では、1 ~ 5 g - d r y · c e l l / l 程度であった。

また、廃水処理などの分解系では基質量を S とすれば、その分解は、

$$\left( \frac{dS}{dt} \right) = -\mu \cdot X / Y_{x/s}$$

で表せる。

ここで、 $\mu$  は菌の比増殖速度、 $X$  は菌の密度、 $Y_{x/s}$  は菌の収率 (菌によって一定の値をとる) を示す。

この発明により、 $\mu$  は  $\mu_{max}$  に近いところで運転可能となるため、菌密度  $X$  を従来より 2 ~ 10 倍高めることができるので、懸濁培養装置の分解速度は従来より 2 ~ 10 倍に増加し、従来の担体を利用したバイオリアクタと比較して数倍増加させることが可能になる。

そこで以下実施例を示し、さらに詳しくこの発明について説明する。

### 実施例

重量平均分子量約 2000、ケン価度 98 % のものを約

16重量%で水に溶解させて飽和ホウ酸で架橋させて得られたPVA（ポリビニルアルコール）ポリマーゲルに、微量要素と無機栄養塩としての金属塩類を担持させ、得られた高分子体を、図6（B）の円柱状になるように無機質多孔体としてのロックウール（石綿）の6本のくりぬき部に充填し、担体に充填した高分子の容積が液部の20%に相当する割合としてメタン菌の培養を行い、担体を用いない場合と比較した。液温度を、5℃、15℃、25℃の各々とした。

表1は、微量金属要素を、表2は、基礎無機塩類を、また表3は、ビタミン溶液の組成を各々例示したものである。

さらにまた表4は、無機質多孔体としてのロックウール（石綿）の物理的物性と組成を示したものである。

表 1

Component	Concentration ( $\mu$ g/liter)
$\text{MgCl} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	410
$\text{MnCl} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	50
$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	50
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	12
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	10
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	10
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	10
$\text{Na}_2\text{SeO}_3$	8
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	2.4
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1
$\text{AlK}(\text{SO}_4)_2$	1
$\text{H}_3\text{BO}_3$	1.8
$\text{NaWO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1

表 2

Component	Concentration (mg/Liter)
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	3400
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	3400
$\text{NH}_4\text{Cl}$	2130
$\text{Na}_2\text{CO}_3$	2540
Resazurin	2

表 3

Component	Concentration ( $\mu$ g / Liter)
Biolin	20
Folic acid	20
Pyridoxine hydrochloride	100
Thiamine hydrochloride	50
Riboflavin	50
Nicotinic acid	50
Calcium DL-pantothenate	50
p-Aminobenzoic acid	50
Lipoic acid	50

表 4

## ロックウールの物理的特性と組成

密度 ( $\text{kg}/\text{m}^3$ )	$80 \pm 12$
真比重	2.9
空隙率 (%)	95~98
組成 (%)	$\text{SiO}_2$ : 42, $\text{Al}_2\text{O}_3$ : 15, $\text{CaO}$ : 33, $\text{MgO}$ : 6, $\text{Fe}$ : 0.5, $\text{TiO}_2$ : 0.9, $\text{MnO}$ : 0.2, $\text{Na}_2\text{O}$ : 1, $\text{K}_2\text{O}$ : 0.8,

メタン菌の培養について、各々の培養温度での担体を用いない場合と比べた結果メタン菌量およびメタン発生速度については表 5 のとおりの結果が得られた。

表 5

担体内微量元素と無機栄養塩濃度は従来の方法の 1 0 0 0 倍の濃度を持たせてある。

温度℃	メタン菌量	メタン発生速度
25	4.8倍	5.8倍
15	2.5倍	5.1倍
5	2.3倍	4.5倍

リアクタ内に装入する前記高分子体と無機質多孔体のうち、培養に影響を及ぼすのは主として高分子体の容積と無機質多孔体の空隙率であることが確認されているが、空隙率が 9 5 ～ 9 8 % であるならば多孔体のみかけの体積はほとんど影響がない。

担体が図 5 の形態である場合、高分子体の容積は液容量の 2 5 % をおよその上限としていると判断される。

そして、表 5 から明らかなように、担体を用いない場合に比べてメタン菌量で 2 . 3 ～ 4 . 8 倍、メタン発生速度で 4 . 5 ～ 5 . 8 倍の優れた効果が得られていることから、図 7 ～ 図 9 に示す模型プラグフロー方式のバイオリアクタにおいても同様に優れた結果が得られると考えられる。そこで、実際の生態系への応用として、硝化・脱窒菌を用い、生活廃水路の底に、多孔性コンクリートブロックに前記高分子体を組み込んで図 6 ( A ) のようにしたもの



のを置いて実験したところ、T-N、T-Pでそれぞれに50%～60%、40～50%（年間平均）の除去率を達成している。

#### 産業上の利用可能性

以上詳しく説明したとおり、この出願の発明によって、高い活性と高密度菌体をバイオリアクタや廃水処理装置内に実現できる新しい微量元素・無機栄養塩類拡散型の菌体培養用担体を提供することができる。さらにこの担体を生態系など環境保全に利用することによって、悪化している環境の修復や修復速度の向上に役立てることが可能となる。

## 請求の範囲

1. 菌体増殖のための微量要素、もしくは微量要素と無機栄養塩を合成または天然の高分子に抱括した要素高分子体が合成または天然の無機質多孔体により挟持積層されていることを特徴とする微量要素を抱括した菌体増殖用担体。
2. 粒状体、筒状体または板状体である請求項1の菌体増殖用担体。
3. ハニカム構造体である請求項1の菌体増殖用担体。

図 1

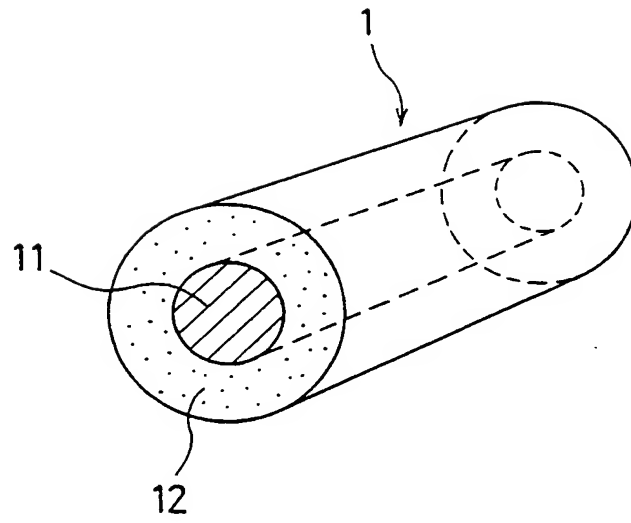




図 2

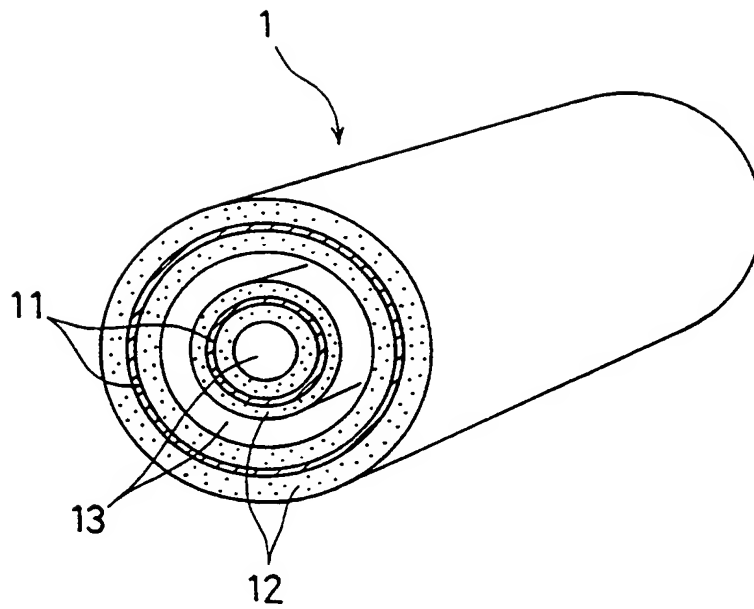




図 3

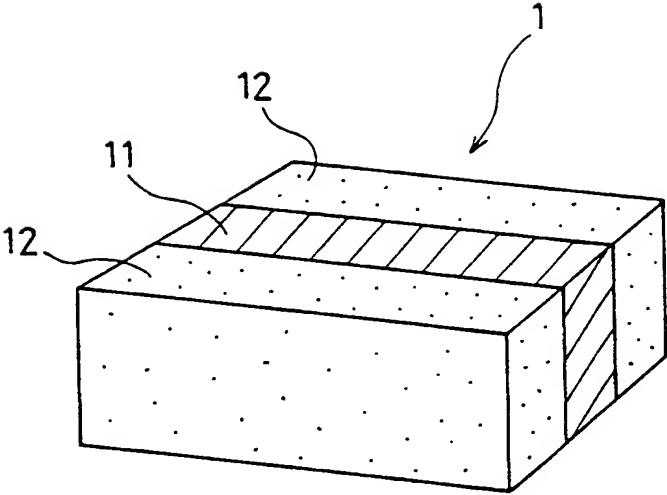






図 4

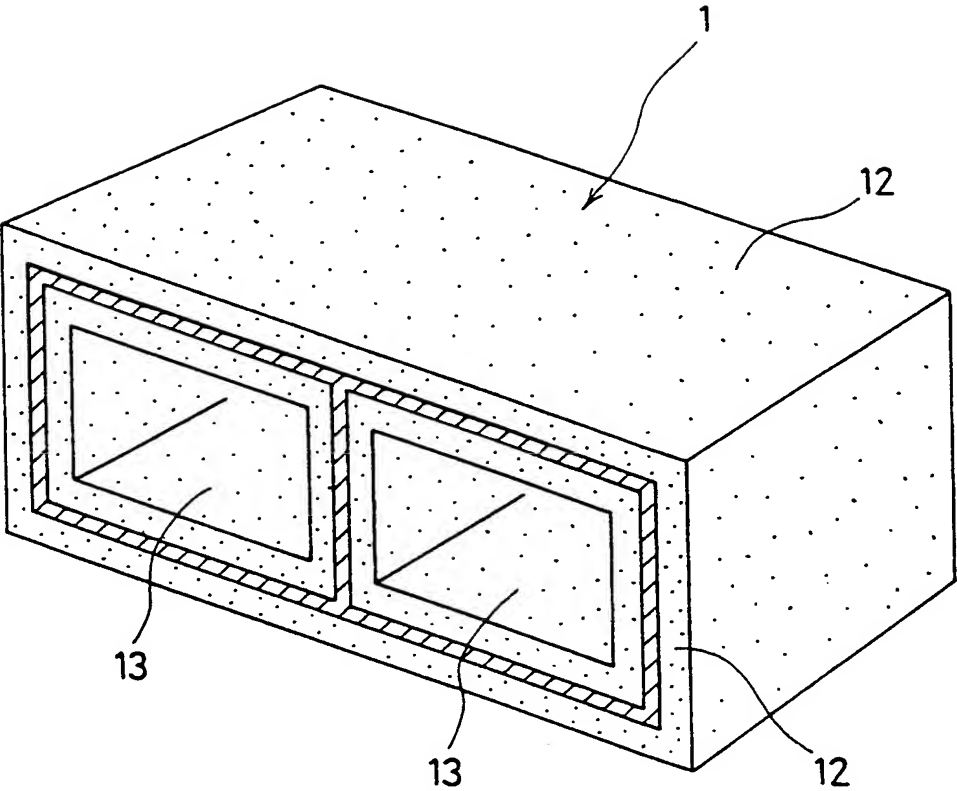




図 5

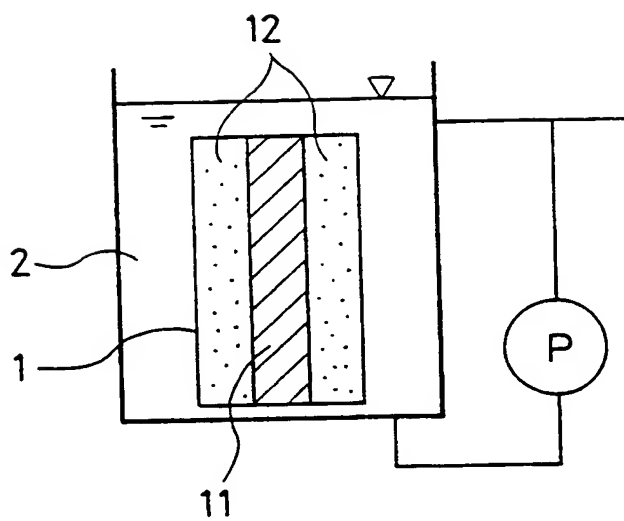
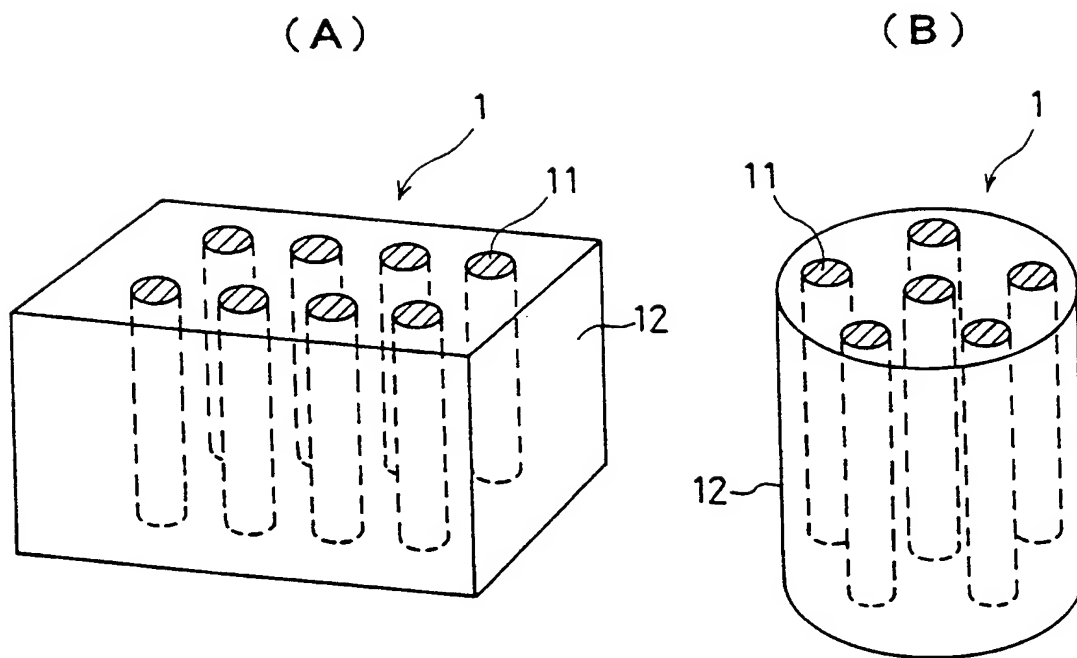




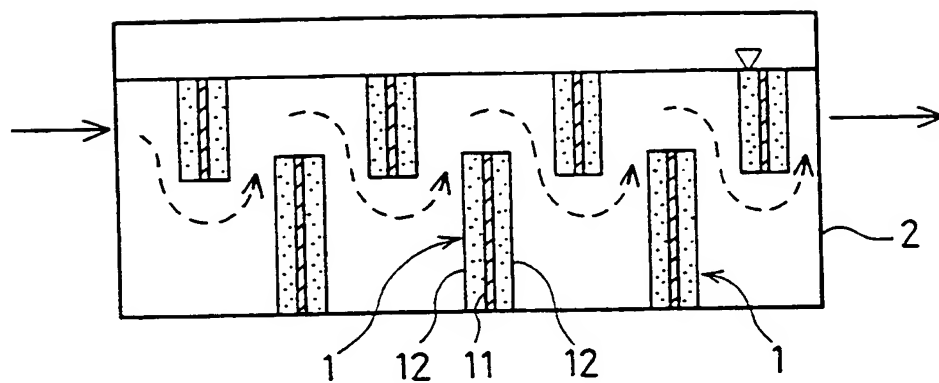
図 6





7

(A)



(B)

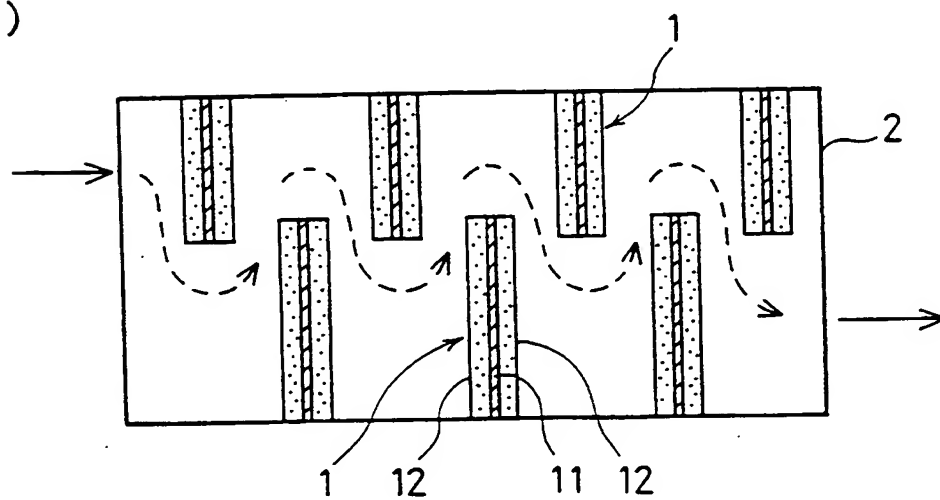






図 8

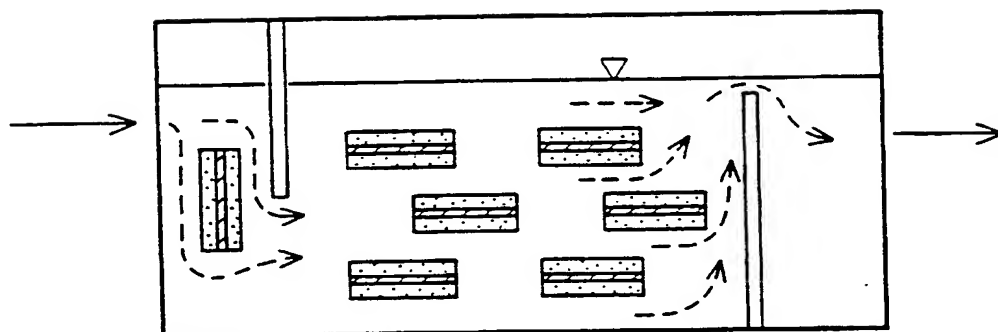
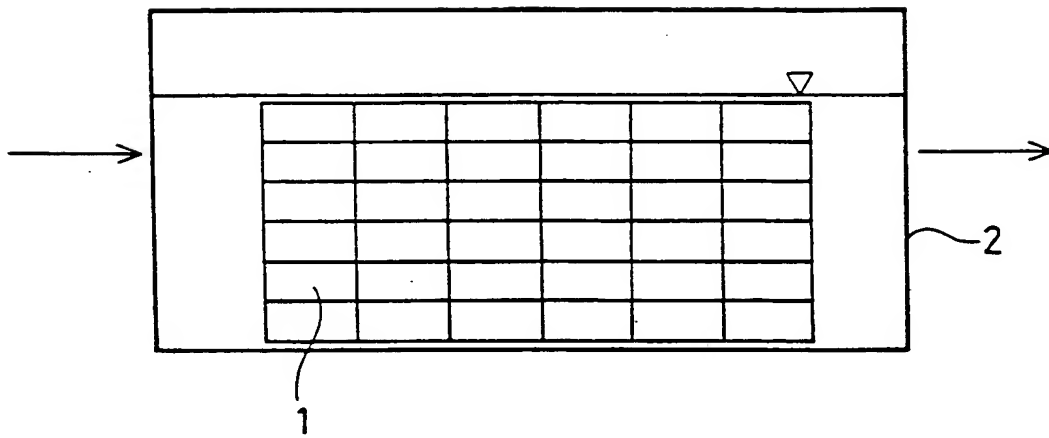




図 9





## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/05758

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> C12N11/08, 11/10, 11/14, C12M1/40, C02F3/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> C12N11/08, 11/10, 11/14, C12M1/40, C02F3/10

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
CA (STN), BIOSIS (DIALOG), WPIDS (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP, 11-123076, A (Takeda Chemical Industries, Ltd.), 11 May, 1999 (11.05.99), Claims; working example (Family: none)	1-3
Y	JP, 9-275981, A (Hitachi Plant Eng. & Constr. Co., Ltd.), 28 October, 1997 (28.10.97), Claims; working example (Family: none)	1-3
Y	JP, 6-207071, A (Kuraray Co., Ltd.), 26 July, 1994 (26.07.94), Claims; working example (Family: none)	1-3
Y	JP, 5-76365, A (Nippon Glass Fiber Co., Ltd.), 30 March, 1993 (30.03.93), Claims; working example (Family: none)	1-2
Y	JP, 58-31987, A (Chiyoda, Chem. Eng. & Constr. Co., Ltd.), 24 February, 1983 (24.02.83), Claims; working example (Family: none)	1-2
Y	JP, 2-131578, A (Kohjin Co., Ltd.), 21 May, 1990 (21.05.90),	3

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search  
28 December, 1999 (28.12.99)Date of mailing of the international search report  
11 January, 2000 (11.01.00)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/05758

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Claims; working example (Family: none)  JP, 1-171643, A (Kohjin Co., Ltd.), 06 July, 1989 (06.07.89), Claims; working example (Family: none)	3

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C12N11/08, 11/10, 11/14, C12M1/40, C02F3/10

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C12N11/08, 11/10, 11/14, C12M1/40, C02F3/10

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), BIOSIS (DIALOG), WPIDS (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 11-123076, A (武田薬品工業株式会社), 11. 5月. 1999 (11. 05. 99), 特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)	1-3
Y	JP, 9-275981, A (日立プラント建設株式会社), 28. 10月. 1997 (28. 10. 97), 特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)	1-3
Y	JP, 6-207071, A (株式会社クラレ), 26. 7月. 1994 (26. 07. 94), 特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)	1-3
Y	JP, 5-76365, A (日本硝子株式会社), 30. 3月. 1993 (30. 03. 93), 特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)	1-2

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

28. 12. 99

国際調査報告の発送日

1 1.01.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

坂崎 恵美子 印

4 N

9 4 5 1

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

## C (続き) . 関連すると認められる文献

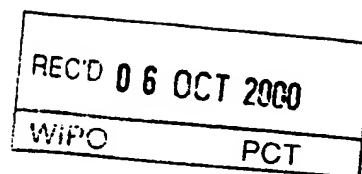
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 58-31987, A(千代田化工建設株式会社), 24. 2月. 1983(24. 02. 83), 特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)	1-2
Y	JP, 2-131578, A(株式会社興人), 21. 5月. 1990(21. 05. 90), 特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)	3
Y	JP, 1-171643, A(株式会社興人), 6. 7月. 1989(06. 07. 89), 特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)	3



PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)  
[PCT36条及びPCT規則70]



出願人又は代理人 の書類記号 99-F-042PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP99/05758	国際出願日 (日.月.年) 19.10.99	優先日 (日.月.年)
国際特許分類(IPC) Int. Cl <sup>7</sup> C12N11/08, 11/10, 11/14, C12M1/40, C02F3/10		
出願人(氏名又は名称)  科学技術振興事業団		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。
- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。  
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)  
この附属書類は、全部で ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 21.04.00	国際予備審査報告を作成した日 21.09.00	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員)  内 田 俊 生 印  電話番号 03-3581-1101 内線 3488	4N 8214



## I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に  
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。  
 PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 出願時に提出されたもの  
 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 出願時に提出されたもの  
 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの  
 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 出願時に提出されたもの  
 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 出願時に提出されたもの  
 明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
 明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である \_\_\_\_\_ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語  
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語  
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表  
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった  
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 図面の第 \_\_\_\_\_ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならない、本報告に添付する。)



V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条（PCT35条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲	1 - 3	有
	請求の範囲		無
進歩性 (IS)	請求の範囲		有
	請求の範囲	1 - 3	無
産業上の利用可能性 (IA)	請求の範囲	1 - 3	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

- 文献1 : JP, 11-123076, A (武田薬品工業株式会社)  
11.5月.1999 (11.05.99)  
特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)
- 文献2 : JP, 5-76365, A (日本碍子株式会社)  
30.3月.1993 (30.03.93)  
特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)
- 文献3 : JP, 58-31987, A (千代田化工建設株式会社)  
24.2月.1983 (24.02.83)  
特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)
- 文献4 : JP, 2-131578, A (株式会社興人)  
21.5月.1990 (21.05.90)  
特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)

請求の範囲1

請求の範囲1の発明は、国際調査報告で引用された文献1及び文献2により、進歩性を有しない。

文献1には、アルカリ金属化合物、アルカリ土類金属化合物、銅及び銅化合物、亜鉛及び亜鉛化合物、遷移金属及び遷移金属化合物からなる群より選択される微生物の生理活性増進物質を包括固定化した、スチレン共重合体等の高分子からなる微生物用担体が記載されている。また、文献2には、多孔性セラミックをスチレンポリマーの周囲に溶着させた微生物用担体が記載されている。文献1及び文献2は、いずれも微生物用担体に関連した技術に係る文献であるから、文献2に記載された微生物用担体において、スチレンポリマーに代えて、文献1に記載された微生物の生理活性増進物質を包括固定化したスチレン共重合体等の高分子を用いることは、当該技術分野の専門家にとって自明である。

請求の範囲2, 3

請求の範囲2, 3の発明は、文献1及び文献2と、国際調査報告で引用された文献3又は文献4とにより、進歩性を有しない。

文献3又は文献4には、微生物固定化用担体をハニカム構造とすることが記載されており、請求の範囲1の微生物固定化用担体の構造を、ハニカム構造又は粒状、筒状若しくは板状とすることは、当該技術分野の専門家が実施に際して適宜決定し得る事項である。



47  
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 99-F-042PCT	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP99/05758	International filing date (day/month/year) 19 October 1999 (19.10.99)	Priority date (day/month/year)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 11/08, 11/10, 11/14, C12M 1/40, C02F 3/10		
Applicant JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>3</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of _____ sheets.</p>
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>

Date of submission of the demand 21 April 2000 (21.04.00)	Date of completion of this report 21 September 2000 (21.09.2000)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.





## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/05758

## I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:\*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the claims:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing part of the description:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.



## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/05758

**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement****1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1-3	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-3	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-3	YES
	Claims		NO

**2. Citations and explanations**

Document 1: JP, 11-123076, A (Takeda Chemical Industries, Ltd.) 11 May 1999 (11.05.99) Claims and Examples (Family: none)

Document 2: JP, 5-76365, A (NGK Insulators) 30 March 1993 (3.03.93) Claims and Examples (Family: none)

Document 3: JP, 58-31987, A (Chiyoda Corp.) 24 February 1983 (24.02.83) Claims and Examples (Family: none)

Document 4: JP, 2-131578, A (Kojin K.K.) 21 May 1990 (21.05.90) Claims and Examples (Family: none)

**Claim 1**

Based on the descriptions in documents 1 and 2 cited in the international search report, the invention set forth in Claim 1 does not appear to involve an inventive step.

Document 1 describes a carrier for microorganisms comprising a polymer such as styrene copolymer and the like that encapsulates and holds a biologically active, microorganism growth-promoting substance selected from a group consisting of an alkali metal compound, alkaline earth metal compound, copper or copper compound, zinc or zinc compound, and transition metal or transition metal compound. Document 2 describes a microorganism carrier in which a porous ceramic is fused the periphery of styrene polymer granules. Both document 1 and document 2 concern technology relevant to microorganism carriers. Therefore, utilizing a polymer such as the styrene copolymer that encapsulates and holds a biologically active, microorganism growth-promoting substance described in document 1 in place of the styrene polymer in the microorganism carrier described in document 2 is obvious to persons skilled in the art.

**Claims 2 and 3**

Based on the descriptions in documents 1-4 cited in the international search report, the inventions set forth in Claims 2 and 3 do not appear to involve an inventive step.

Documents 3 and 4 describe preparing a microorganism carrier with a honeycomb structure. Preparing the structure of the microorganism carrier described in Claim 1 as a honeycomb structure or as granules, tubes, or plates is a matter to be determined by persons skilled in the art when actually working the invention.



EP

US

PCT

## 国際調査報告

(法 8 条、法施行規則第 40、41 条)  
[PCT 18 条、PCT 規則 43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 99-F-042PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記 5 を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 99/05758	国際出願日 (日.月.年) 19.10.99	優先日 (日.月.年)
出願人 (氏名又は名称) 科 学 技 術 振 興 事 業 団		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第 41 条 (PCT 18 条) の規定に従い出願人に送付する。  
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

## 1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない (第 I 欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している (第 II 欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第 III 欄に示されているように、法施行規則第 47 条 (PCT 規則 38.2(b)) の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から 1 カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 \_\_\_\_\_ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。



## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C12N11/08, 11/10, 11/14, C12M1/40, C02F3/10

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C12N11/08, 11/10, 11/14, C12M1/40, C02F3/10

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), BIOSIS (DIALOG), WPIDS (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 11-123076, A (武田薬品工業株式会社), 11. 5月. 1999 (11. 05. 99), 特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)	1-3
Y	JP, 9-275981, A (日立プラント建設株式会社), 28. 10月. 1997 (28. 10. 97), 特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)	1-3
Y	JP, 6-207071, A (株式会社クラレ), 26. 7月. 1994 (26. 07. 94), 特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)	1-3
Y	JP, 5-76365, A (日本硝子株式会社), 30. 3月. 1993 (30. 03. 93), 特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)	1-2

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

28. 12. 99

国際調査報告の発送日

1 1.01.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

坂崎 恵美子

4 N

9451

電話番号 03-3581-1101 内線 3488





C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 58-31987, A (千代田化工建設株式会社), 24. 2月. 1983 (24. 02. 83), 特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)	1-2
Y	JP, 2-131578, A (株式会社興人), 21. 5月. 1990 (21. 05. 90), 特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)	3
Y	JP, 1-171643, A (株式会社興人), 6. 7月. 1989 (06. 07. 89), 特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)	3

